

助成番号 0656

## 発色剤無添加乾塩漬ハムの亜鉛プロトポルフィリン IX (ZPP) 形成における海塩の役割について

若松 純一

北海道大学大学院農学研究院

**概要** パルマハムは豚もも肉と海塩のみで製造される。亜鉛プロトポルフィリン IX (ZPP) は発色剤を使用しないこれらの食肉製品で生成される特徴的な赤色色素である。本研究では、ZPP 生成に及ぼす海塩中のミネラル成分の影響の調べるため、一般的な精製塩と海塩を用いて実際にパルマハムタイプの乾塩漬食肉製品を製造し、酸化還元電位と ZPP の形成との関係を調べた。

乾塩漬ハム製造過程における ZPP 形成量は製造 40 週目以降に著しく増加した (Fig. 1)。蛍光顕微鏡観察においても製造 40 週目以降の精製塩および SS 区で筋線維内全体に強い蛍光がみられたが、精製塩および海塩の添加で大きな差はみられなかった。ヘム含量は製造中のばらつきが大きく、酸化還元電位は製造日数の経過と共に上昇する傾向がみられたが (Fig. 2)、いずれも ZPP や塩との明瞭な関係はみられなかった。紫色 LED を用いた観察でも、これまでのパルマハムでの報告と一致したが、食塩による違いは認められなかった。発色剤を使用しないで塩漬する伝統的食肉製品において、海塩は風味の形成に関与しているかもしれないが、ZPP の形成には影響しないのかもしれない。

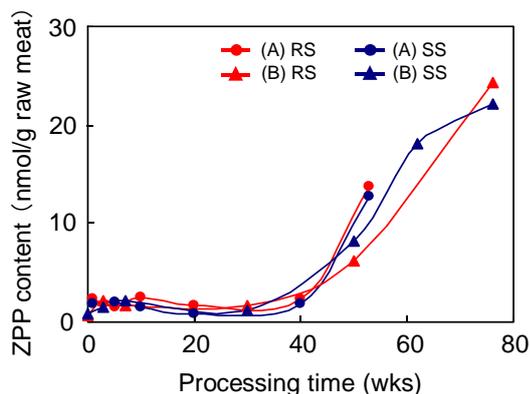


Fig. 1 Changes in contents of ZPP in dry-cured hams during processing. Each content was corrected with the decrease in water by drying.

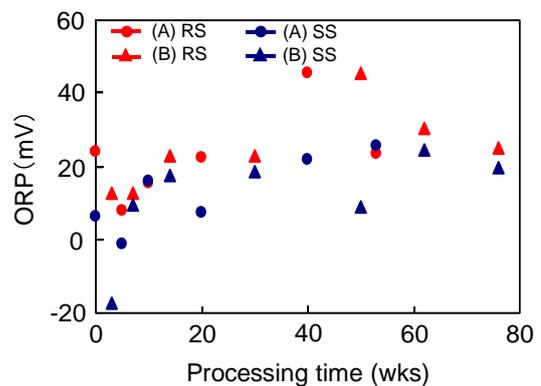


Fig. 2 Changes in oxidation-reduction potential (ORP) of dry-cured hams during processing.

### 1. 研究目的

一般的な食肉製品の塩漬(えんせき)工程では食塩と発色剤(硝酸塩、亜硝酸塩)が用いられる。発色剤は肉中のミオグロビンなどに含まれるヘムをニトロシル化することにより、加熱後も特徴的な桃赤色を呈するようにする。発色剤は色調の改善だけでなく、フレーバーの醸成や酸化抑制、猛毒を産生するボツリヌス菌の増殖を防ぐなどの、多彩な効果を有しており、食肉製品の加工において重要な食品添加物である。しかし、亜硝酸塩は酸性条件下でアミン類と反応して、発ガン性物質を形成することが知ら

れており、使用量の削減や使用そのものの削除を望む声もある(Pegg & Shahidi, 2000)。

一方、伝統的な乾塩漬長期熟成生ハム(イタリアのパルマハムや、中国の金華ハムやスペインのハモン・イベリコの一部など)は発色剤を使用せず、豚肉と海塩のみから製造されるが(Toldrá, 2002)、安定で鮮やかな赤色を呈する。この原因として我々は、ハム内に亜鉛プロトポルフィリン IX (ZPP) が形成されるためであると報告し(Wakamatsu et al., 2004a)、豚肉とミオグロビンを嫌氣的に保持することにより ZPP が生成することも確認した(Wakamatsu et al.,

2004b)。さらに、このモデル実験系を用いて、ZPP はへム内の鉄が亜鉛に置換して生成するのではなく、新たに生成されたプロトポルフィリン IX (PPIX) に亜鉛が挿入されて生成することを示唆した。ZPP および PPIX の生成は温度や pH に大きく依存するため (Wakamatsu et al., 2004b; Wakamatsu et al., in press)、酵素の関与も考えられる。また、還元剤の添加は ZPP および PPIX の形成を抑制し、微量の酸化剤の添加は ZPP および PPIX の形成を促進する (奥井, 2006; 林, 2007)。生体内で PPIX は、プロトポルフィノーゲンが酸化されて生成することが知られており、乾塩漬長期熟成生ハム内でもこの反応が起こっている可能性も考えられるが、未だに ZPP 形成機構は明らかになっていない。伝統的な乾塩漬長期熟成生ハムの色調は海塩による塩漬工程後に酸化されて、一時的に褐色化することが知られている。精製された食塩と比べて海塩は夾雑物が多く、これらの成分により適度に酸化されて PPIX ならびに ZPP の形成を促進することが考えられる。

そこで本研究では、PPIX ならびに ZPP 形成に及ぼす海塩中のミネラル成分などの夾雑物の影響と ZPP 形成機構を明らかにすることを目的に、一般的な精製塩と海塩を用いてパルマハムタイプの乾塩漬食肉製品を製造し、ZPP の形成と酸化還元電位との関係を調べた。

## 2. 研究方法

### 2.1 実験材料

骨付き豚もも肉は大ヨークシャー種とランドレース種の混合種 (162 日齢, ホクレン) を 2 頭用いた。北海道大学内ですと畜し、剥皮せずに骨付きハム用に整形した後、 $-30^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した。塩は精製塩 (財団法人塩事業センター) とイタリア産の海塩 (Sosalt Spa) を用いた。

### 2.2 実験方法

#### 2.2.1 乾塩漬ハムの製造

骨付き豚もも肉 4 本 (2 頭分) に、それぞれ重量の 6% の精製塩 (Refined salt; RS) または海塩 (Sea salt; SS) を添加して 6 週間塩漬してブラッシングした後、紐でつるして冷蔵庫内 (約  $1^{\circ}\text{C}$ ) で 10 週間乾燥した後、温水で洗浄し、さらに常温で 60 週間乾燥・熟成した (合計 76 週間)。製造 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 20, 30, 40, 50, 60 週目に生検トレパン (6 mm  $\phi$ , BP-60F, カインダストリーズ) を用いて半膜様筋および大腿二頭筋から試料を採取し、HPLC 分析、酸化還元電位の測定および蛍光顕微鏡観察に用いた。なお、1 週目以降の試料は隔週で採取個体を変えた。製造

1 年目 (53 週目) と製造終了時 (76 週目) に精製塩および海塩塩漬ハムをそれぞれ 1 本ずつ除骨処理した後、厚さ 5 mm にスライスした。

#### 2.2.2 蛍光顕微鏡による ZPP の分布観察

乾塩漬ハムを Tissue Tek (Sakura Finetechnical) で包埋し、液体窒素で急速凍結させて試料片を作製した。試料片は  $-30^{\circ}\text{C}$  に冷却したクリオスタット (CM3050S, LEICA) 内で、厚さ 10  $\mu\text{m}$  の凍結切片を作製し、Aqua-Poly/Mount (Polysciences) で封入した。その後、蛍光顕微鏡 (BX50, オリンパス) にて ZPP の分布を観察した。励起フィルターは BP400-440 (BI0005, 朝日分光)、ダイクロイックミラーは DM565 を、吸収フィルターは BA5801F を用いて ZPP の蛍光を検出した。

#### 2.2.3 紫色 LED を用いた ZPP の分布観察

##### 2.2.3.1 紫色 LED 照明装置

最大波長が 400 nm である紫色 LED (OSSV5111A, OptoSupply) を 10.16 mm 間隔で取り付け、電流は 2 つの定電流ダイオード (10 mA CRD, E-103) を並列に組み込んで制御し、これを 9 列並列につなげて、合計 45 個を基盤に取り付けたものを 2 個使用した。

##### 2.2.3.2 紫色 LED 光照射と撮影

Wakamatsu らの方法 (2006) を一部改良して行なった。厚さ 5 mm にスライスした乾塩漬ハムに、420 nm 付近を透過するシートタイプの特定波長透過フィルター (BPB-42, 富士フィルム) を装着した紫色 LED 光を照射し、デジタルカメラ (D70, ニコン) で撮影した。紫色 LED は左右等位置に配置し、同じ角度 (およそ  $45^{\circ}$ ) から照射し、乾塩漬ハムスライスに光が均一に当たるように調整した。撮影時のぶれを防ぐため、デジタルカメラを撮影台に固定して撮影した。また、デジタルカメラに 580 nm 付近より長波長の光を透過するモノクロコントラスト用の赤色フィルター (MC R1, ケンコー) を装着して撮影した。

##### 2.2.4 酸化還元電位の測定

乾塩漬ハムは細切した後、9 倍量の蒸留水を加えてホモジナイザー (ヒスコトロン, 日音医理科器械製作所) にて氷中下でホモジナイズ (15,000 rpm, 1 分間) したものを用いた。ORP 防水電極 (9300-10D, 堀場製作所) を接続した pH/ORP メーター (F-15, 堀場製作所) を用いて測定した。

##### 2.2.5 HPLC によるポルフィリンの定量

酢酸/酢酸エチル法 (Robert et al., 1980) により、へム、ZPP および PPIX の抽出を行った。豚胸最長筋、豚肝臓モ

デル試料および乾塩漬ハムに9倍量の酢酸/酢酸エチル(1:4)を加えて攪拌した。乾塩漬ハムは細切した後、9倍量の蒸留水を加えてホモジナイザー(ヒスコロン, 日音医理工器機械製作所)にて氷中でホモジナイズ(15,000 rpm, 1分間)したものを用いた。15分間冷暗下にて抽出した後、遠心分離(3,000 rpm, 15分間)を行い、上清をメスアップした。酢酸/酢酸エチルで抽出した試料に、メタノール/酢酸アンモニウム(86:14, pH 5.16)を等量加え、メンブレンフィルター(0.45  $\mu\text{m}$ )でろ過した後、HPLC分析を行った。すべての操作はできるだけ遮光下で行なった。HPLC分析はGuo et al.の方法(1991)に準じて測定した。HPLCシステムは、JASCO GURRIVER SERIES(日本分光)、UV-Vis検出器はUV-970、蛍光検出器はFP-920を用いた。カラムはSTR ODS-II(4.6  $\times$  150 mm, 粒径5  $\mu\text{m}$ , 信和化工)を用い、溶離液はメタノール/酢酸アンモニウム(86:14, pH 5.16)、流速は0.6 ml/min、注入量は40  $\mu\text{l}$ 、カラム温度は35 $^{\circ}\text{C}$ とした。ヘムおよびPPIXは検出波長400 nmで検出し、ZPPは励起波長420 nmにおける蛍光波長590 nmで検出した。各々の濃度は標準溶液で作成した標準曲線より算出した。

### 3. 研究結果

#### 3.1 重量の変化

乾塩漬ハム製造過程における重量の経時的変化をFig. 1に示す。各乾塩漬ハムの重量は塩漬期に大きく減少し、冷蔵乾燥期および乾燥・熟成期では肉重量は直線的に減少した。製造開始から1年(53週)で38~43%

減少し、製造終了時の76週(532日)で44~45%減少した。精製塩(Refined salt; RS)と海塩(Sea salt; SS)で重量変化に違いはみられなかった。後述のZPPおよびヘム含量は水分の減少量を補正して、加工前の原料肉の重量当たりで算出した。

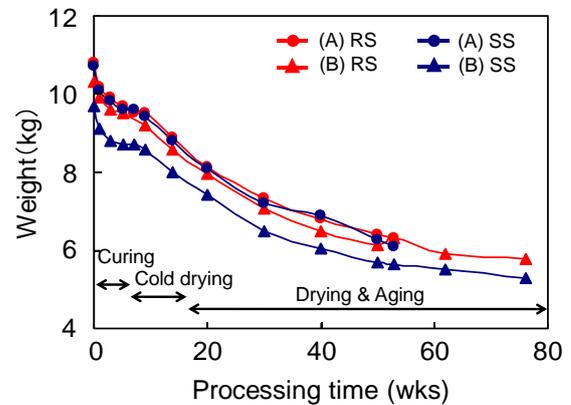


Fig. 1 Changes in weight of dry-cured hams during processing. Four pork legs with bone from two pigs (A, B) were cured with refined salt (RR; red) or sea salt (SS; blue) for six weeks at 1-3 $^{\circ}\text{C}$ . They were then dried for 10 weeks at 1-3 $^{\circ}\text{C}$  and dried and aged for 60 weeks at room temperature.

#### 3.2 赤身におけるZPPおよびヘム含量の変化

乾塩漬ハム製造過程におけるZPPとヘムの含量の推移を、半腱様筋と大腿二頭筋を用いて測定したが、違いが見られなかったため、ZPPおよびヘム含量は両筋肉の平均値で示す。ZPPは製造開始から40週目までほとんど増加しなかったが、40週目以降から60週目にかけて著しくZPPは増加し、その後も製造終了(73週目)まで増加した(Fig. 2a)。精製塩区または海塩区共に同様の傾向を示し、塩漬に用いた塩の影響は見られなかった。

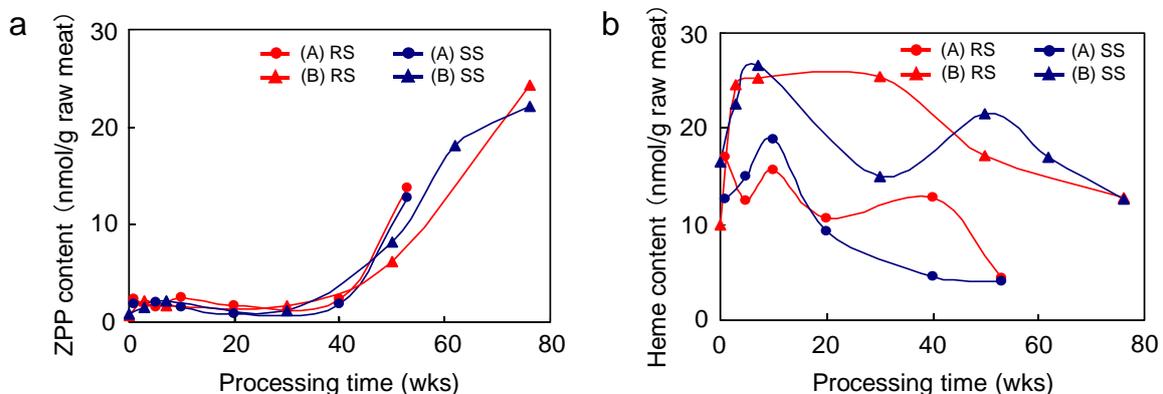


Fig. 2 Changes in contents of ZPP and heme in dry-cured hams during processing. Four pork legs were cured with refined salt (RS) or sea salt (SS). Samples were obtained temporally and measured by HPLC. Each content was corrected with the decrease in water by drying.

一方、ヘム含量は乾塩漬ハム製造中に大きく変動した (Fig. 2b)。データには示さないが、ZPP 含量と同様に半膜様筋と大腿二頭筋の違いも認められなかった。また、RS 区(A)とSS 区 A または RS 区 B と SS 区 B のヘム濃度が製造過程を通して近い値を示した。RS 区 A と SS 区 A、RS 区 B と SS 区 B は同一個体であることから、個体間による差と考えられるが、塩の影響は見られなかった。

### 3. 3 ZPP の分布の変化

次に、製造中の筋線維における ZPP の分布を蛍光顕微鏡を用いて観察した (Fig. 3)。塩漬期の1週目と5週目では筋線維には蛍光はほとんど見られないが、筋線維周辺で微かに ZPP を示す蛍光が観察された。その後、蛍光は筋線維内部に徐々に広がり、製造 14 週目には強くないものの筋線維全体に蛍光が観察されるようになった。製造中期および後期では HPLC 分析による ZPP 濃度の結果と同様に、RS 区および SS 区ともに非常に強い ZPP を示す蛍光が観察された (53 週目および 76 週目)。

筋肉組織および脂肪組織による ZPP の局在の違いについて製造 1 年目で観察した (Fig. 4)。赤肉では筋線維全体に強い蛍光が観察されたが、筋間脂肪および皮下脂肪では細胞周辺の結合組織に沿うように蛍光が観察さ

れ、脂肪滴内には蛍光はほとんど観察されなかった。また、筋間脂肪と皮下脂肪とでは ZPP の局在に大きな差は見られなかった。一方、塩漬に用いた食塩による ZPP の局在の違いは、筋肉組織と脂肪組織のいずれにおいても認められなかった。

### 3. 4 紫色 LED 照射による ZPP の分布観察

紫色 LED 照射を用いて、製造終了時 (76 週目) の精製塩および海塩添加乾塩漬ハム断面の ZPP の分布観察を行なった。Fig. 5 に示すように、赤身部分では乾塩漬ハムの肉塊中心部で、より強い蛍光が観察され、酸素に触れる切開面に近い箇所は比較的弱かった。皮下脂肪の内側や筋間脂肪で強い赤色蛍光が観察された。この結果は前述の結果 (Fig. 4) とは異なるものであるが、パルマハムを用いた既報 (Wakamatsu et al., 2006) の結果とは一致している。外周部でも強い蛍光が観察されたが、これらは黄緑色の蛍光であったことから (データ示さず)、*Pseudomonas fluorescens* などの蛍光菌により産生されたフルオレセイン由来と考えられる。これまでの結果と同様に、精製塩および海塩添加による明らかな違いは見られなかった。

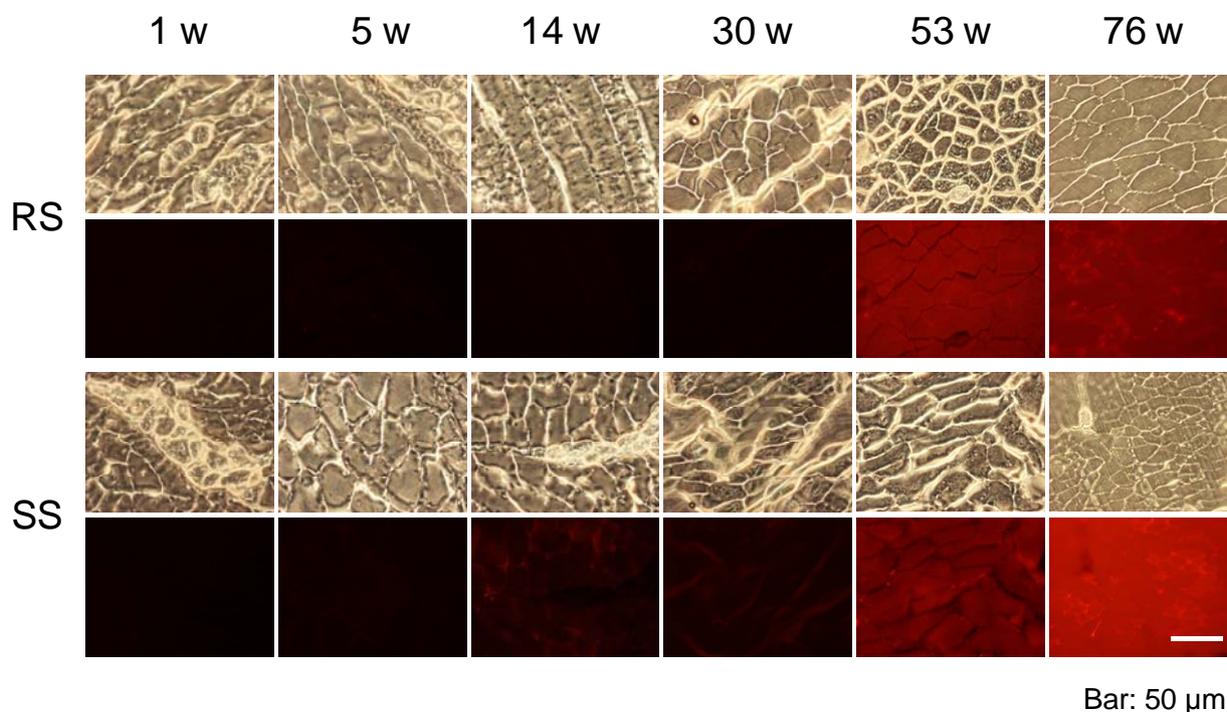


Fig. 3 Changes in localization of ZPP during processing in each dry-cured ham cured with refined salt (RS) or sea salt (SS). Upper images are phase-contrast images and lower images are fluorescence images.

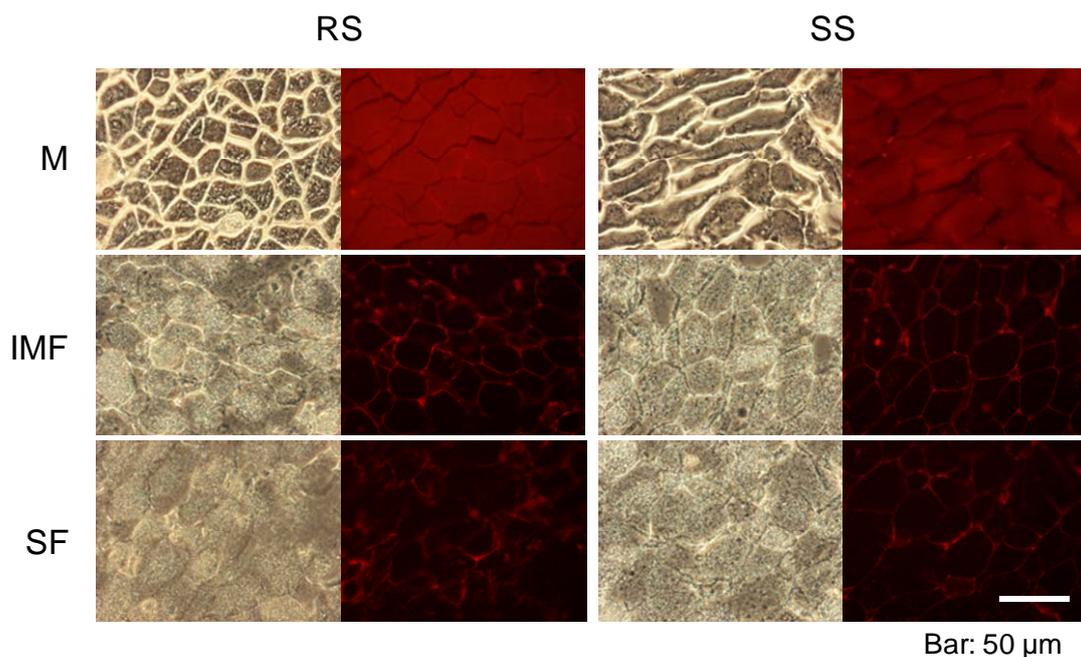


Fig. 4 Localization of ZPP in muscle (M), intermuscular fat tissue (IMF) and subcutaneous fat tissue (SF) of dry-cured hams cured with refined salt (RS) or sea salt (SS).

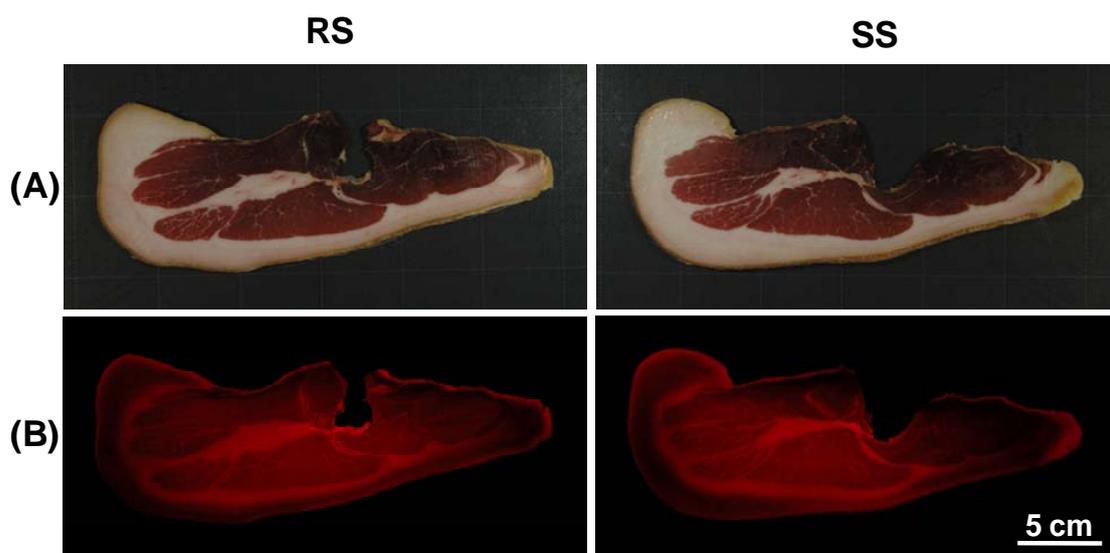


Fig. 5 Localization of ZPP in dry-cured ham cured with refined salt (RS) or sea salt (SS). Upper images are obtained under white light and lower images were obtained by the use of purple LEDs.

### 3. 5. 酸化還元電位の変化

乾塩漬ハム製造過程における酸化還元電位の変化を Fig. 6 に示す。各試験区の酸化還元電位は製造中に大きく変動したが、製造過程を通して上昇する傾向がみられた。豚胸最長筋を用いたモデル実験系において、酸化剤の添加により酸化還元電位をわずかに上昇させることによってZPPが増加することが報告されている(奥井ら,

200)。すなわち、乾塩漬ハムの製造過程におけるZPPの形成も酸化還元電位の上昇が影響していることが示唆された。しかし、ZPP含量との関連性が認められなかったことや酸化還元電位の値が変動したことなどから、ZPPの形成と酸化還元電位の関係については今後も検討が必要である。

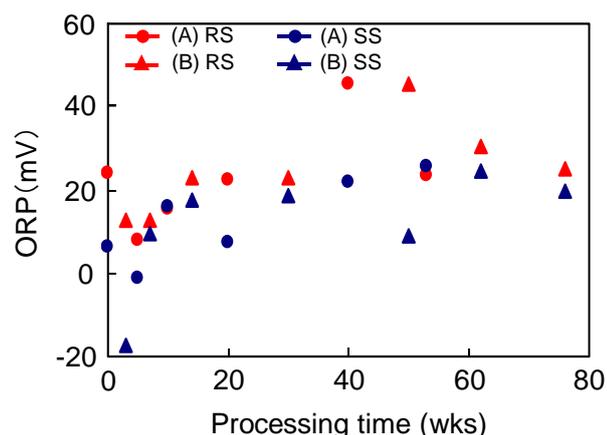


Fig. 6 Changes in oxidation-reduction potential (ORP) of dry-cured hams during processing. Four pork legs were cured with refined salt (RS) or sea salt (SS).

#### 4. 考察

イタリアの伝統的乾塩漬食肉製品であるパルマハムの鮮やかな赤色は、ZPP に起因することが明らかにされている(Wakamatsu et al., 2004a)。ZPP は豚胸最長筋を用いたモデル実験系において、熟成中に新たに形成された PPIX に亜鉛が配位して形成されること、PPIX および ZPP の形成は pH に強く依存している(Wakamatsu, 2004b; Wakamatsu, in press)。これまでの研究の多くは、モデル実験系を用いて ZPP 形成機構を検討してきたが、パルマハムの製造中における ZPP 形成の挙動は不明である。そこで本研究では、パルマハムにおける ZPP 形成機構の解明を目的として、パルマハムタイプの乾塩漬ハム製造中における ZPP 形成の挙動と酸化還元電位の影響について検討した。

製造過程における ZPP の挙動を観察したところ、ZPP は製造開始から 40 週目まではほとんど増加しなかったが、40 週目以降から 60 週目にかけて著しく増加した。蛍光顕微鏡観察では、製造 5 週目に筋線維周縁部で微弱な蛍光がみられ、その後製造日数につれて筋線維内部に広がっていった。さらに、製造後期では非常に強い蛍光が筋線維全体に観察され ZPP の測定結果とほぼ一致した。パルマハムのような長期熟成型の食肉製品は、亜鉛が結合したタンパク質が分解することによって亜鉛が遊離し、ZPP が形成されると考えられる。低 pH ほど食肉中の遊離の亜鉛量は増加するが(未発表)、食肉の pH は一般に 5.5-6.0 で遊離亜鉛量は多くないと考えられることから、乾塩漬ハムにおける亜鉛の遊離は製造段階後期に顕著に起こり、ZPP が著しく形成されたのかもしれない。ZPP 濃

度が安定したのは、酸化や光に対して安定であることから(Adamsen et al., 2004)、これらの要因はあまり影響しなかったと考えられる。一方、乾塩漬ハムのヘム濃度は、製造中に変動が大きかった。この原因として、1 回に採取できる試料の量や数が限られていたことや肉表面に近い部分しか試料を採取できなかったことから、洗浄などによる溶出や、酸化や光の影響によってヘムが分解されやすい条件であったことなどが原因として考えられることから、今後検討する必要がある。また、ZPP 量とヘム含量に関係が見られなかったことから、ZPP はヘムからの形成ではないという報告(Wakamatsu et al., in press)を支持するものである。

製造した乾塩漬ハム断面の LED 照射像から、ZPP は肉塊中心部でより多くの形成がみられた。また、筋間脂肪や皮下脂肪の内側で ZPP の蛍光が観察され、顕微鏡による観察とは異なっている。しかし、これはパルマハムで観察した結果と同じであり(Wakamatsu et al., 2006)、自家蛍光との相関も高かった(データ示さず)。このため、紫色 LED 照射における脂肪部位の ZPP 量の比較に関してはさらに検討が必要である。一方、パルマハム周縁部でも強い蛍光が観察された。しかし、この蛍光の色調は黄緑色であり(データ示さず)、ZPP ではなく、*Pseudomonas fluorescens* などの蛍光菌が産出したフルオレセインと考えられる。この黄緑色の蛍光は周縁から 2-5 mm の深さまでしか浸透していない。食肉製品中の ZPP はブドウ球菌などの微生物により産出するとの報告もあるが(Morita et al., 1996)、内部には微生物が存在しないこと、フルオレセインの分子量は約 330 で ZPP (MW 626) の半分であることから考えると、ZPP は表層の微生物の分泌物とは考えにくく、食肉中の成分のみから形成するという報告(Wakamatsu et al., 2004b)を強く支持するものである。

製造中の乾塩漬ハムにおける酸化還元電位を経時的に測定したところ、各試験区で酸化還元電位は上昇する傾向がみられた。豚胸最長筋を用いたモデル実験系において、酸化剤の添加により僅かに酸化還元電位を上昇させることで、ZPP (奥井ら, 2006) やその前駆物質である PPIX (林ら, 2007) が増加した。PPIX の前駆物質であるプロトポルフィリノーゲン IX は、プロトポルフィリノーゲンオキシダーゼにより酸化されて形成される。また、プロトポルフィリノーゲン IX は空気や酸化剤の影響によっても容易に形成されることから、乾塩漬ハムにおいても熟成中に酸化還元電位の上昇によってプロトポルフィリノーゲンの

酸化が促進され、PPIX が増加して ZPP が形成される可能性が示唆された。したがって、海塩に含まれる夾雑物の酸化作用により、精製塩区よりも ZPP は増加すると考えられたが、両試験区に顕著な差はみられなかった。ヘム生合成系においてフェロケラターゼは主にミトコンドリア内におけるヘム合成の終末酵素として、PPIX に二価鉄を挿入し、プロトヘムを作る反応を触媒する。二価の亜鉛なども利用される (Jones & Jones, 1968) が、二価鉄が優先的に PPIX に挿入される。三価の鉄は利用されないことから、乾塩漬ハム製造中に酸化還元電位の上昇によって鉄の電荷が三価になり、その結果フェロケラターゼの基質として亜鉛が利用されて ZPP が増加した可能性も考えられる。しかし、ZPP の増加がみられる以前の製造 30 週目から酸化還元電位は上昇が始まっており、ZPP 形成量との明瞭な関係は認められなかったため、今後もさらなる検討が必要である。

乾塩漬ハムの製造により、ZPP の形成は 40 週以降の製造後期から始まり、PPIX の形成は酸化還元電位の上昇によってプロトポルフィリン IX が酸化することにより増加することが示唆された。しかしながら、海塩による ZPP の形成促進能は認められなかったが、本実験で用いた海塩以外にも様々な天然塩があることから、ZPP 形成促進能を有するものも存在するのかもしれない。

## 5. 今後の課題

パルマハムの製造において海塩は不可欠であり、風味以外にも様々な効果が考えられる。しかし、本研究の結果からは、海塩が乾塩漬ハムにおける ZPP 形成に関与しているという結果は得られなかった。また、我々はこれまでにモデル実験系を用いて、ZPP はミオグロビンなどに存在するヘムから形成されるのではなく、ヘムの生合成系の途中から形成する可能性を報告している。しかし、本研究において、ZPP とヘム含量の結果から裏付ける結果を得ることはできなかったが、否定する結果ではなかった。製造後期の 40 週目以降に ZPP の急激な増加が見られたことは、ZPP 形成機構の解明の糸口につながると考えられる。今後は、本研究で得られた ZPP 形成パターンや局在を基に、ヘム生合成系の関与について詳細に検討する必要がある。光や熱に安定な ZPP の形成機構の解明は、食品添加物である発色剤を用いなくて、色調の好ましい食肉製品を製造することを可能とするだろう。

## 文献

- Adamsen C.E., Møller J.K.S., Hismari R., & Skibsted L.H. (2004) Thermal and photochemical degradation of myoglobin pigments in relation to colour stability of sliced dry-cured Parma ham and sliced dry-cured ham produced with nitrite salt. *European Food Research Technologies*, 218, 403-409.
- Guo R., Lim C.K., & Peters T.J. (1991) High-performance liquid chromatographic assays for protoporphyrinogen oxidase and ferrochelatase in human leucocytes. *Journal of chromatography*, 566, 383-396.
- 林 宣隆, 若松純一, 西邑隆徳, 服部昭仁. (2007) プロトポルフィリン IX (PPIX) の形成に及ぼす亜硝酸塩の影響. 日本畜産学会第 107 回大会講演要旨, 132.
- Jones M.S., & Jones O.T. (1968) Ferrochelatase of *Rhodopseudomonas spheroids*. *Biochemical Journal*, 119, 453-462.
- Møller J. K. S., Adamsen C.E., & Skibsted L.H. (2003) Spectral characterization of red pigment in Italian-type dry-cured ham. Increasing lipophilicity during processing and maturation. *European Food Research Technologies*, 216, 290-296.
- Morita, H., Niu, J., Sakata, R., & Nagata, Y. (1996). Red pigment of Parma ham and bacterial influence on its formation. *Journal of Food Science*, 61, 1021-1023.
- 奥井 潤, 若松純一, 西邑隆徳, 服部昭仁. (2006) 食肉製品中のプロトポルフィリン IX の形成について. 日本畜産学会第 106 回大会講演要旨, 165.
- Pegg R.B. & Shahidi F. (2000) *Nitrite Curing of Meat*. Connecticut: Food & Nutrition Press.
- Robert M.S., Donna D., Mark M., & Brian B. (1980) High-performance liquid chromatographic determination of protoporphyrin and zinc protoporphyrin in blood. *Journal of Chromatography*, 181, 319-327.
- Toldrá, F. (2002). *Manufacturing of dry-cured ham. Dry-cured meat products* (pp. 27-62). Connecticut: Food & Nutrition Press.
- Wakamatsu J., Nishimura T. & Hattori A. (2004a) A Zn-porphyrin complex contributes to bright red color in Parma ham. *Meat Science*, 67, 95-100.
- Wakamatsu J., Okui J., Ikeda Y., Nishimura T. & Hattori A.

(2004b) Establishment of a model experiment system to elucidate the mechanism by which Zn-protoporphyrin is formed in nitrite-free dry-cured ham. *Meat Science*, 68, 313-317.

Wakamatsu J., Odagiri H., Nishimura T., & Hattori A. (2006) Observation of the distribution of Zn

protoporphyrin IX (ZPP) in Parma ham by using purple LED and image analysis. *Meat Science*, 74, 594-599.  
Wakamatsu J., Okui J., Hayashi N., Nishimura T. & Hattori A. (in press) Zn protoporphyrin IX is formed not from heme but from protoporphyrin IX. *Meat Science*.

No. 0656

## Role of Sea Salt in the Formation of Zn Protoporphyrin IX (ZPP) in Dry-Cured Meat Products without the Addition of Nitrate or Nitrite

Jun-ichi WAKAMATSU

Research Faculty of Agriculture, Hokkaido Univ.

### Summary

Parma ham is processed only from pork leg and sea salt. Zinc protoporphyrin IX (ZPP) is a characteristic red pigment in meat products that are processed without the addition of a curing agent such as nitrate or nitrite. To examine effects of impurities such as mineral components in sea salt on the formation of ZPP, we manufactured Parma ham-type dry-cured ham cured with refined salt or sea salt and examined the involvement of oxidation-reduction potential (ORP) in the formation of ZPP. The content of ZPP was increased drastically after 40 weeks. In microscopic observation, strong fluorescence caused by ZPP was observed mainly in muscle fiber after 40 weeks. On the other hand, heme contents varied considerably during processing. ORP tended to rise during processing. However, there were no obvious difference between ham cured with refined salt and that cured with sea salt. In dry-cured ham cured with no addition of a curing agent, sea salt is likely to be involved in the specific flavor but is not involved in the formation of ZPP.